

适用于表征古树衰老的生理指标*

张艳洁¹ 丛日晨² 赵琦¹ 张国华¹ 李玉华¹ 谷润泽²

(1. 首都师范大学生命科学院 北京 100048 ; 2. 北京园林科学研究所 北京 100102)

摘要: 随着古树的衰老,代谢水平逐渐下降,多种酶趋于降解,营养物质合成速率降低,叶绿体和线粒体活力降低,明显出现器官水平上的程序化细胞死亡。本文概述近 20 年来国内外对古树叶片超微结构、叶绿素含量、蛋白质含量、活性氧防御系统、矿质营养元素等生理指标的检测和分析结果,旨在对古树的衰老检测和复壮提供理论依据和切实可行的方法。

关键词: 古树;衰老;生理指标

中图分类号:S718.43 文献标识码:A 文章编号:1001-7488(2010)03-0134-05

Physiological Indexes Applied to Characterize Aging Old Trees

Zhang Yanjie¹ Cong Richen² Zhao Qi¹ Zhang Guohua¹ Li Yuhua¹ Gu Runze²

(1. *Biology Department of Capital Normal University Beijing 100048* ; 2. *Beijing Institute of Landscape Gardening Beijing 100102*)

Abstract: The senescence of old tree belongs to the special degenerate process of procedure cell death. This paper summarized the measurements of leaf ultrastructure, chlorophyll content, protein content, active oxygen defensive system and mineral nutrition element of the old leaves. It also analysed and discussed the practicability of these physiological indexes.

Key words: old tree; senescence; physiological index

古树是文化、历史的重要物证,历来受到重视和保护。由于生长年代久远,出现不同程度的衰老表征,甚至死亡。树木的衰老是树体整个外部形态、内部结构及生理功能都发生衰退的综合现象,是一个复杂的生理过程。随着古树的衰老,其营养组分、水分输导、矿质营养元素、激素和酶系统等都发生显著变化,体内代谢的合成和分解代谢逐渐失调,进而引起组织衰老,导致器官及个体的衰竭,最终导致古树死亡。研究古树衰弱过程中各种代谢指标的变化,有助于发现古树衰老的可靠原因,及时采取相应的复壮措施,达到有效保护古树,保留历史景观。

国外研究者在草本植物衰老代谢以及衰老遗传等方面积累不少经验,并形成系统的理论基础(熊和平等,1999),但国外古树存活量少,故古树衰弱研究尚不多见报道。我国的古树复壮研究主要以树体的生长状况及古树生态环境改善为突破口,结合植物衰老研究领域的成果和理论,对古树衰弱的诸多因素进行具体分析,尝试采用可行的复壮措施,奠定古树复壮的理论基础。本文作者查阅了近 20 年

来国内外有关研究的大量文献,按照古树叶片超微结构、叶绿素含量、蛋白质含量、活性氧防御系统、矿质营养元素等方面进行了归纳和分析。

1 古树叶片的结构特征

叶片是植物进行光合、呼吸及蒸腾作用的重要器官,是制造有机物的场所。随着研究方法的不断深入,可以从亚细胞水平观察叶片的结构和功能,叶肉细胞中的叶绿体、线粒体是判断细胞生理活性的重要结构,对古树而言,发生在这些细胞器中的渐进性功能衰退及细微的结构变化,都直接影响古树的代谢平衡,干扰古树的正常生长,其中叶片的衰老是程序性细胞死亡的特殊退化过程(李德红等,1995)。郑波等(2006)以白皮松(*Pinus bungeana*)、侧柏(*Platycladus orientalis*)和油松(*Pinus tabulaeformis*)为材料,对衰弱和复壮古树叶片的超微结构进行了观察与分析,结果显示,复壮和濒弱的古树叶片结构存在显著差异,主要表现在:1)复壮古树叶绿体中片层丰富、排列整齐、基粒发达,而衰

收稿日期:2008-08-29。

基金项目:北京市科委项目“古树保护与复壮”。

* 赵琦为通讯作者。

弱古树的叶绿体片层出现明显的解体,导致片层稀疏和叶绿体膜系统解体;2)复壮树的叶肉细胞中噬铁颗粒少而小,衰弱树的叶绿体膜系统严重破损,噬铁颗粒多而大;3)复壮树的叶绿体数量多且外形较小,基粒片层密集,排列整齐,叶绿素含量高;而衰弱古树的叶绿体数目少,基粒片层薄而少,呈现不规则收缩,导致外被膜与内部结构的损坏;4)复壮树叶绿体中淀粉粒少而小,而衰弱古树的叶绿体中淀粉粒多而大(李锦龄,1998)。另外,何英姿等(2000)用X射线能谱观察了古白皮松当年生针叶的结构,也发现了叶绿体淀粉粒的显著增大现象,认为可能与缺少Cu、Zn和K离子有关。除了在松柏类古树中观察到叶绿体噬铁颗粒增大与衰老有关外,赵旺兔等(2003)在榉树(*Zelkova schneideriana*)中看到了同样的现象,衰老的榉树叶片细胞中有深色物质积累,细胞核被挤在细胞膜一侧,细胞质中央大液泡充满了黑色的噬铁颗粒,叶绿体中有巨大的淀粉粒,脂肪滴增多。Vlčková等(2006)也观察到衰弱叶片的叶绿体片层结构减少,叶绿体中积累了大量的淀粉粒。从上述研究结果可以看出,古树衰弱现象主要表现在叶绿体的超微结构上,随着古树衰老的进程,可以看到叶绿体中巨大淀粉粒的积累和噬铁颗粒的增加,这说明程序性的叶片细胞特殊性退化,可以揭示叶片衰老的开端。

2 叶绿素和蛋白质含量

在植物的衰老进程中,同化作用逐渐减弱,异化作用逐渐加强,有机物大量分解。有研究证明,衰老进程中,叶绿素和蛋白质含量均显著下降(刘道宏,1983)。因此,与同化作用密切相关的叶绿素含量变化能够反映同化作用的强度,另外,可溶性蛋白质的含量变化(刘道宏,1983;方志伟,1987)也能反映同化作用的强度。

众所周知,叶绿素是光合作用的组分,叶绿素含量的降低(陆定志,1983)预示着植物衰老开始(喻树迅等,1994),随着叶片中叶绿素的减少,叶色开始变黄(李付广,2003)。不同树龄的古树,衰弱程度不同,叶绿素含量也不同,有研究表明,古油松的强势树比衰弱树的叶绿素含量要高30%;而七叶树(*Aesculus chinensis*)的强势树比衰弱树叶绿素含量高14%(李庆等,2004);这种现象在广玉兰(*Magnolia grandiflora*)、香樟(*Cinnamomum camphora*)、银杏(*Ginkgo biloba*)中也得到了证实(汤珧华等,2004)。何英姿等(1997)对古白皮松当年生针叶进行了光合特性研究,发现壮树的叶片叶

绿素含量明显高于弱树和特弱树,特弱树的叶绿素含量只有壮树的50%。通过测定20、60和100年树龄的黄山松(*Pinus taiwanensis*)针叶的叶绿素含量,发现总叶绿素含量随树龄的增加而减少,其中100年树龄的总叶绿素含量下降幅度最显著(李东林等,1997)。但是随着叶片的衰老,叶绿素a和叶绿素b比值产生了变化,有试验证明,衰老叶片的Chl a/b比值会增加(Lu,2001)。

在叶绿体中,叶绿素和蛋白质形成色素蛋白复合体,在光合过程中共同起作用。因此,蛋白质和叶绿素含量的变化趋势基本一致。李东林等(1997)测定了不同树龄黄山松当年生针叶中蛋白质的含量,发现随树龄的增加蛋白质含量降低,蛋白质含量下降幅度较大的是80年树龄的黄山松,以100与40年树龄黄山松做对比,发现100年树龄的针叶蛋白质含量降低36%,这就不难看出为何古树的光合速率下降显著。因此对古树叶片的叶绿素和蛋白质含量进行检测,可以判断古树的衰老状况,及时采取相应的复壮措施。

3 活性氧防御系统

有研究发现,叶片的衰老进程与活性氧代谢呈正相关(王海涛等,2001),主要由于植物体内活性氧积累过多,在细胞内会启动膜脂氧化机制,进而破坏膜结构,造成生物氧毒害;同时细胞内也存在清除活性氧自由基的系统,正常情况下,两者之间维持着动态平衡。植物细胞中的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POA)能够共同协调,清除细胞中的活性氧,促使细胞内的自由基维持在一个较低水平,从而防止活性氧对细胞的氧化损坏,这3种内源性酶构成细胞内的防御酶系统,因此防御酶的活性可用作检测植物衰老的指标之一(林植芳等,1984;王根轩等,1989)。近年来,对超氧化物歧化酶(SOD)研究得比较多。

何英姿等(1994)用生长旺盛期、停滞期、恢复期的古白皮松为材料,分别选取东、南、西、北4个朝向顶端的松枝针叶,在夏、冬、春3个季节,分别测定其SOD活性,结果显示:无论哪个朝向的针叶,在冬季生长停滞期古白皮松的SOD活性都出现上升趋势,到春季恢复期SOD又降下来。这说明冬季是古白皮松SOD活性最高的阶段;但是不同的树种SOD活性变化趋势不同,古树和幼树的SOD活性也不同。通过对银杏、浙江楠(*Phoebe chekiangensis*)和雀梅藤(*Sageretia theezans*)3种阔叶树的古、幼树新梢叶片中SOD活性进行测定,结果

显示,古树的 SOD 活性低于幼树,但二者差异较小,且二者 SOD 活性曲线波形近似(徐德嘉,1995)。李东林等(1997)对 20~60 年树龄的黄山松当年生针叶的 SOD 活性进行了比较,发现它们之间 SOD 活性差异不显著,而 CAT 活性随树龄增加而下降。由此可见,树势强弱、生长时期等因素都与防御酶活性密切相关。

有研究发现,胡萝卜素能与活性氧直接反应,维生素 C、维生素 E、甘露醇等也可以直接或间接通过酶的催化作用与活性氧反应,从而控制细胞内自由基的含量,故这些非酶类物质也被列入活性氧清除剂的范畴(王宝山,1988;王建华等,1989)。徐德嘉(1995)测定了老树和幼树新梢中的类胡萝卜素含量,结果发现银杏、雀梅藤老树中类胡萝卜素含量均低于幼树,但二者差异不显著,看来这些非酶类物质对改善植物的防御酶系统有促进作用,随着树龄的增加,非酶类物质含量减少,因此,防御酶系统的作用也呈下降趋势。如果对古树进行复壮处理,可以改善古树体内的防御酶系统,以缓解古树的衰老进程。该学者还对古楸树(*Catalpa buloba*)进行复壮处理,发现经复壮处理的古楸树的叶片中类胡萝卜素的含量高于长期失管的幼树,由此看出,有效的复壮措施有利于改善古树的树势。因此,类胡萝卜素的含量可能也与树势的强弱有关。研究指出叶黄素循环可以清除过度积累的过氧化物(Vlčková *et al.*, 2006; Niyogi *et al.*, 1998),减少由光氧化所导致的光合系统损伤(Demmig-Adams, 1990; Young, 1991)。

在古树体内,由于内源保护酶 SOD 活力的降低,不能完全清除细胞内所产生的活性氧,从而使细胞内氧自由基大量积累,增加了膜脂不饱和脂肪酸的过氧化,形成了许多过氧化物,如脂质过氧化物丙二醛(MDA)、乙烷、乙烯等。Dhindsa 等(1981)早就指出:膜透性与脂质过氧化物 MDA 的增加,会导致叶片衰老。李东林等(1997)测定了不同树龄的黄山松当年生松叶的脂质过氧化物 MDA,发现高龄老树的 MDA 含量显著增加,因此加速了古树的衰老。何英姿等(1994)发现生长旺盛期、停滞期、恢复期的古白皮松中 MDA 的变化与 SOD 密切相关,老树的 SOD 活力降低,故 MDA 含量偏高,弱树中 SOD 活力较弱,故 MDA 含量也偏高,因此要延缓古树的衰老,主要从增加非酶类物质入手,改善内源防御酶系统,可达事半功倍的效果。

4 矿质营养元素

古树树龄大多在百年以上,有的甚至达几千

年,由于自然淋溶及气候、立地环境的不断变化,以及人为活动的影响,导致古树根系土壤瘠薄,矿质营养失衡,从而影响古树的正常生长。

李锦龄(2001)运用高频等离子吸收光谱仪,分析了古油松、古白皮松、侧柏的当年生针叶及根系的矿质元素,同时测定了叶片、土壤中的 N 素含量,结果表明:古油松的矿质营养平衡失调,主要是 N 和 K 2 种元素的严重缺失,导致古油松生长势衰弱;而古白皮松矿质元素平衡失调与缺 Mg、Fe、Zn 有直接关系,濒弱的古白皮松枝叶中这 3 种元素的含量显著低于对照;经过对比发现,古白皮松、古侧柏、古油松的矿质营养失衡都与 Na 元素过量有关,3 种濒危古树中 Na 元素的平均含量是对照的 28.75 倍;另外还利用能谱分析仪对细胞切片进行了叶绿体的扫描分析,用无标样法计算了各元素的峰值和相对含量,结果显示,衰弱古树中 K、Mg、Ca 元素的峰值比对照树的峰值低;衰弱树中 Fe 的峰值也比对照树的峰值低,但特弱树中 Fe 的峰值反而比衰弱树的峰值高,这可能是由于 Fe 过量导致中毒,所以每种元素在古树体内都应有适当的比例,并非越多越好;Cu、Zn 元素在对照树中检测出峰值,而在衰弱树中检测不到峰值。众所周知 Cu、Zn 元素一般存在于代谢酶系中,而衰弱树代谢强度减弱,所以检测不出峰值。由此可见,元素过量或不足都会影响树体的正常代谢(Vlčková *et al.*, 2006; Niyogi *et al.*, 1998)。

薛秋华等(2006)发现,古槐(*Sophora japonica*)叶片中 N、P、Mg 元素含量低于幼槐;Ca、Fe、Mn 含量则高于幼槐,K 元素含量在古槐和幼槐中基本相同。例如古香樟叶片的营养元素含量变异系数较大,其中不可再利用元素的变异系数大于可再利用营养元素(李迎,2008)。因此,古香樟树叶片中 N、P、K 三大营养元素均低于幼年香樟树,说明 N、P、K 元素在古香樟树中被再次利用。

土壤中的矿物质元素含量对树木的生长也具有一定影响。李庆庚等(2000)研究发现,古银杏生长土壤的 P 和 K 素总量均比现代银杏的总量高,而 N 要比现代银杏的总量低。

5 内源激素

内源激素是植物体内微量但具有重要调节作用的生理活性物质,生长素(IAA)、细胞分裂素(CTK)、赤霉素(GA₃)、脱落酸(ABA)和乙烯(ETH)都与植物生长发育和衰老有关(赵春江等,2000;孟庆伟等,2002)。

奎宏等(2005)指出 CTK 和 IAA 的消长及

CTK/IAA 比值是判断植物衰老的重要指标。另外,根部合成的细胞分裂素(CTK)经木质部随蒸腾流向顶端运输,对地上部蛋白质和叶绿素代谢、叶片的生理活性均起着重要作用(Bano *et al.*, 1993; Ding *et al.*, 1985; Nooden *et al.*, 1993; Soejima *et al.*, 1995)。因此,细胞分裂素的数量变化也可作为根系衰老的生理指标(沈波等, 2002)。丁彦芬等(2000)利用 CTK, IAA, GA_3 对古银杏进行了复壮的研究,结果表明 $20 \times 10^{-6} \text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 CTK 能有效延缓古银杏的叶绿素降解,并降低 RNase 的活力,从而延缓衰老;细胞分裂素 6-苄基腺嘌呤(BA)液和生长素 2,4-D 的复合处理以及 CTK 和 GA_3 的复合处理,比单一处理显著延缓古银杏枝条的叶绿素降解速率,提高有机物合成,从而延缓衰老。由此看出,使用促进植物生长物质,特别是细胞分裂素,进行古银杏复壮处理,效果非常显著。

6 其他指标

何英姿等(2000)在研究中发现衰老的古树叶绿体大都内含巨大的淀粉粒,而巨大淀粉粒里缺乏 Cu, Zn, K 等元素,他认为淀粉粒在叶绿体内过多积累,致使叶绿体的大部分空间被占用,基粒片层垛叠受到限制,类囊体数量减少,再加上营养元素的缺失,导致了光合作用下降,碳水化合物合成不足,影响营养物质运输和转化,致使古树抗病能力降低,代谢减缓,促进衰老死亡。

李庆等(2004)用红外线测温仪分别测定了七叶树和油松的衰弱树及对照树的树体温度,结果显示,相同环境中,2种衰弱树的体温均比对照树要高。这可能与树木的生理代谢亢进及水分代谢失调有关,代谢物不能有效运转,水分的吸收和转运得不到有效调节。因此,造成代谢失调,树体温度失常。

7 小结

古树的衰老和死亡是一个渐变的进程,如果能在开始阶段就检测出古树的衰老,并发现衰老的原因,及时采取相应的复壮措施,就可能延缓古树的衰老,避免珍贵树种的死亡和绝迹。近些年来,随着生物技术应用领域的不断拓宽,对古树的复壮研究已经从生态和生理生化领域的整体水平深入到分子和亚分子水平,并且通过根系透气、叶外施肥、主干湿化补水、吊瓶滴注营养液等理论联系实际的方法,在古树复壮的研究领域已取得了显著的成效;但与其他领域的研究水平相比,对古树的研究相对还比较薄弱。概括起来,目前的研究主要集中在古树叶部

光合特性的研究,包括叶片的超微结构、叶绿素和蛋白质的含量等生理指标的检测。另外还对古树的代谢特性进行了研究,主要针对活性氧防御系统、矿质营养元素和内源激素以及树体温度等生理指标进行了大量的测定和分析。通过这些检测和分析,已经初步认识到,古树衰亡主要是细胞器结构老化畸变和代谢水平降低以及有害物质积累造成的。因此,古树复壮对症下药。今后需要从古树内源物质的检测,尤其是激素的分布和平衡调控,以及生物技术对古树衰老研究中的实际应用等方面深入研究。

参 考 文 献

- 丁彦芬,刘玉莲,郭继善. 2000. 古银杏复壮技术的研究. 江苏林业科技, 27(增): 35-39.
- 方志伟. 1987. 水稻叶片叶绿素含量变化与光合作用的关系. 南京农业大学学报(4): 18-22.
- 何英姿,刘忠敏. 2000. 应用 X 射线微区分析方法测定古白皮松针叶细胞中的微量元素. 北京园林(4): 6-8.
- 何英姿,刘忠敏. 1997. 古白皮松衰老机理的研究. 广西工学院学报, 8(4): 78-82.
- 何英姿,刘忠敏. 1994. 古白皮松衰老机理初探: 超氧化物歧化酶及脂质过氧化物与衰老的关系. 广西工学院学报, 5(2): 58-60.
- 奎宏,华锡奇,童晓青. 2005. 雷竹开花期内源激素、氨基酸和营养成分含量的变化. 林业科学, 41(2): 169-173.
- 李德红,潘瑞焱. 1995. 水杨酸在植物体内的作用. 植物生理学通讯, 31(2): 144-149.
- 李东林,严景华,曹恒生,等. 1997. 黄山松不同龄阶针叶衰老指标的比较研究. 林业科学研究, 11(2): 218-221.
- 李付广. 2003. 双价基因抗虫棉生理生化特征研究. 棉花学报, 15(3): 131-137.
- 李锦龄. 1998. 古树矿质营养及细胞微区的研究. 中国园林, 14(2): 46-50.
- 李锦龄. 2001. 北京松柏类古树濒危原因及复壮技术的研究. 北京园林, 17(1): 24-27.
- 李庆,马建鑫,赵凤君,等. 2004. 北京市戒台寺、潭柘寺古树衰老的几个生理特征研究. 西部林业科学, 33(2): 37-41.
- 李庆庚,李群. 2000. 银杏生长的土壤肥力变化研究. 土壤通报, 31(2): 46-48.
- 李迎. 2008. 古樟树营养诊断与复壮技术研究. 福建农林大学硕士学位论文.
- 林植芳,李双顺,林桂珠,等. 1984. 水稻叶片的衰老和超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系. 植物学报, 26(6): 603-613.
- 刘道宏. 1983. 植物叶片的衰老. 植物生理学通讯, 19(2): 14-19.
- 陆定志. 1983. 叶片的衰老及其调节控制//北京植物生理学会. 植物生理生化进展. 北京: 科学出版社, 20-52.
- 孟庆伟,夏凯,李合生. 2002. 现代植物生理学. 北京: 高等教育出版社, 32-38.
- 沈波,王熹. 2002. 两个亚种间杂交稻组合的根系生理活性. 中国水稻科学, 16(2): 153-157.
- 汤珣华,程敏. 2004. 透气砖对古树复壮作用的探索. 中南林学院

- 学报, 24(5):121-122, 321.
- 王宝山. 1988. 生物自由基与植物膜伤害. 植物生理学通讯, 24(2): 12-16.
- 王根轩, 杨德承, 梁厚果. 1989. 豆叶片发育与衰老过程中超氧化物歧化酶活性与丙二醛含量的变化. 植物生理学报, 15(1): 13-17.
- 王海涛, 杨祥良, 徐辉碧. 2001. 活性氧的信号分子作用. 生命的化学, 21(1): 39-41.
- 王建华, 刘鸿先. 1989. SOD 在植物逆境和衰老生理中的应用. 植物生理学通讯, 25(1): 1-7.
- 熊和平, 于志熙. 1999. 延缓几种南方古树衰老的研究. 武汉城市建设学院学报, 16(3): 9-13.
- 徐德嘉. 1995. 古树体内活性氧防御酶系统酶活性的初步研究. 苏州城建环保学院学报, 8(2): 49-54.
- 薛秋华, 徐 炜, 艾明渡. 2006. 古槐树的保护与复壮研究. 园艺园林科学, 22(2): 262-266.
- 喻树迅, 黄祯茂, 姜瑞云, 等. 1994. 几个短季棉品种叶片衰老特征的研究. 棉花学报, 4(增): 31-35.
- 赵春江, 康书江, 王纪华, 等. 2000. 植物内源激素对小麦叶片衰老的调控机理研究. 华北农学报, 15(2): 53-60.
- 赵旺兔, 彭 冶, 丁雨龙. 2003. 榉树叶片解剖构造和叶肉细胞超微结构的观察. 植物资源与环境学报, 12(2): 52-57.
- 郑 波, 陈之欢, 黄 凯, 等. 2006. 古松柏叶肉细胞超微结构的研究. 北京农学院学报, 21(3): 39-41.
- Bano A, Dorffling K, Hahn H. 1993. Abscisic acid and cytokinins as possible root-to-shoot signals in xylem sap of rice plants in drying soil. *Austra Plant Physiology*, 20: 109-115.
- Demmig-Adams B. 1990. Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophylls zeaxanthin. *Biochim Biophys Acta*, 1020: 1-24.
- Dhindsa R S, Dhindsa P P, Thorpe T A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide desmutase and catalase. *Experimental Botany*, 32: 93-101.
- Ding J, Shen Z D. 1985. Cytokinins in root exudates of cotton plants. *Acta Phytophysiol Sin*, 11(3): 249-259.
- Lu C M. 2001. Characterization of photosynthetic pigment composition, photosystem II photochemistry and thermal energy dissipation during leaf senescence of wheat plants grown in the field. *Journal of Experimental Botany*, 52(362): 1805-1810.
- Niyogi K K, Grossman A R, Bjorkman O. 1998. *Arabidopsis* mutants define a central role of the xanthophyll cycle in the regulation of photosynthetic energy conversion. *Plant Cell*, 10: 11-21.
- Nooden L D, Letham D S. 1993. Cytokinin metabolism and signalling in the soybean plant. *Austra Plant Physiol*, 20: 639-653.
- Soejima H, Sugiyama T, Ishihara K. 1995. Changes in the chlorophyll contents of leaves and in leaves of cytokinins in root exudates during ripening of rice cultivars: ipponbare and Akenohoshi. *Plant Cell Physiol*, 36(6): 1105-1114.
- Vlčková A, Špundová M, Kotabová E, *et al.* 2006. Protective cytokinin action switches to damaging during senescence of detached wheat leaves in continuous light. *Physiologia Plantarum*, 126: 257-267.
- Young A J. 1991. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiol Plant*, 83: 702-708.

(责任编辑 郭广荣)